

Palabras clave:

doxorubicina, doxorubicinol,
farmacocinética comparada,
gatos, cancer

Keywords:

doxorubicin, doxorubicinol,
comparative
pharmacokinetics, feline,
cancer

Farmacocinética comparativa de doxorubicina libre y una formulación liposomal en gatos tras administración intravenosa



**Farmacocinética comparativa
de doxorubicina libre y una
formulación liposomal en
gatos tras administración
intravenosa**

[https://axoncomunicacion.net/
farmacocinetica-comparativa-de-la-doxorrubicina-
libre-y-una-formulacion-liposomal-en-gatos-tras-
la-administracion-intravenosa/](https://axoncomunicacion.net/farmacocinetica-comparativa-de-la-doxorrubicina-libre-y-una-formulacion-liposomal-en-gatos-tras-la-administracion-intravenosa/)



Yu Liu¹, Sumeng Chen¹, Zeyu Wen¹, Jinyan Meng¹, Yuxin Yang¹, Yang Zhang¹, Jianzhong Wang^{2*} y Xingyuan Cao^{1,3*}

1. Department of Veterinary Pharmacology and Toxicology, College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing, China
2. Shanxi Key Laboratory for Modernization of TCM, College of Veterinary Medicine, Shanxi Agricultural University, Jinzhong, China
3. Key Laboratory of Detection for Veterinary Drug Residue and Illegal Additive, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing, China

La doxorubicina, un potente agente quimioterapéutico muy utilizado en el tratamiento del cáncer, muestra un comportamiento farmacocinético complejo, especialmente en varias formulaciones. Con una incidencia creciente de casos de cáncer en gatos, la comprensión de la farmacocinética del fármaco en sujetos felinos sigue siendo un área crítica pero inexplorada. Por lo tanto, en este estudio se investiga el perfil farmacocinético de la doxorubicina tras la administración intravenosa lenta de clorhidrato de doxorubicina (DOX-HCl) o clorhidrato de doxorubicina (DOX-HCl-PLI) liposomal pegilada en doce gatos a una dosis única de 20 mg/m².

Las muestras de sangre recogidas en el momento del pretratamiento (0h) y a lo largo de 192h se analizaron mediante cromatografía líquida de ultrarendimiento-espectrometría de masas (UPLC-MS/MS). Los parámetros farmacocinéticos obtenidos de doxorubicina revelaron diferencias significativas entre las dos formulaciones y fueron los siguientes: semivida de eliminación (T_{1/2λz}) de 5,00±3,20h (DOX-HCl) y 17,62±8,13h (DOX-HCl-PLI), área bajo la curva concentración/tiempo de 0 al último punto (AUC_{last}) de 0,67±0,12 µghr./mL (DOX-HCl) y 783,09±267,29 µghr./mL (DOX-HCl-PLI), y aclaramiento corporal total (CL_{obs}) de 27098,58±5205,19 mL/h/m² (DOX-HCl) y 28,65±11,09 mL/h/m² (DOX-HCl-PLI). Además, también se detectaron diferencias en el volumen aparente de distribución (Vz_{obs}) con 178,56±71,89 L/m² (DOX-HCl) y 0,64±0,20 L/m² (DOX-HCl-PLI), y la concentración plasmática máxima (C_{max}) con 2,25±0,30 µg/mL (DOX-HCl) y 24,02±5,45 µg/mL (DOX-HCl-PLI). En particular, se detectó una baja concentración de doxorubicinol, el metabolito de la doxorubicina, en plasma después de la administración de DOX-HCl, y una concentración aún menor cuando se administró DOX-HCl-PLI. Esta investigación proporciona valiosa información sobre los distintos comportamientos farmacocinéticos del DOX-HCl y el DOX-HCl-PLI en los gatos. DOX-HCl-PLI en gatos, aportando una base esencial para futuros estudios y posibles aplicaciones clínicas en oncología felina.

Introducción

La doxorubicina, ampliamente usada en el tratamiento del cáncer de mama y de ovario, es un antibiótico de tipo antraciclina, antitumoral, de amplio espectro que inhibe la síntesis de ADN, ARN y proteínas en las células en varios ciclos de crecimiento (1,2). Actualmente, hay dos formulaciones de doxorubicina autorizadas para el uso clínico en humanos, clorhidrato de doxorubicina y clorhidrato de doxorubicina liposomal (3). Aunque la doxorubicina presenta una eficacia antitumoral significativa, los estudios clínicos indican muchos efectos adversos (4-6). Por ejemplo, las investigaciones han demostrado que la doxorubicina y su metabolito, el doxorubicinol, cuando se combinan provocan fuertes efectos secundarios tóxicos en humanos y otras especies (7, 8). Las investigaciones sobre una forma liposomal de doxorubicina han revelado su capacidad para alterar el perfil farmacocinético del fármaco in vivo, mejorando en consecuencia su eficacia antitumoral (9-13).





El carcinoma mamario felino sigue siendo uno de los más comunes tumores en gatos, mostrando una alta malignidad y ratio de metástasis, mostrando características clínico-patológicas, epidemiológicas e histológicas, y una clasificación molecular similar a las encontradas en el cáncer humano (14-16). En los recientes años, varios estudios han descrito la eficacia de la doxorrubicina en el tratamiento de una variedad de tumores felinos (17-20). De forma más específica, un artículo detalló el uso de cirugía citorreductora y quimioterapia adyuvante con doxorrubicina en el tratamiento del hemangiosarcoma mesentérico, lo que resultó en una supervivencia prolongada en el gato (18). Sin embargo, en otros informes se ha expresado preocupación sobre la importante toxicidad del fármaco en gatos, que provoca lesión renal, mielosupresión, anorexia y pérdida de peso (21). Se necesita un conocimiento profundo para revelar opciones terapéuticas destinadas a mejorar el resultado clínico en el gato. Dichos estudios están limitados por la falta de líneas celulares felinas disponibles para ensayos de citotoxicidad (22). Además, al comparar las dos formulaciones de doxorrubicina, las propiedades físicas del liposoma desempeñan un papel importante en la alteración de la farmacocinética del fármaco, un factor estrechamente relacionado tanto con la eficacia como con las reacciones adversas (23). A pesar de esto, sólo unos pocos estudios han caracterizado el perfil farmacocinético de la doxorrubicina en gatos. La evaluación del perfil farmacocinético de la doxorrubicina y el doxorrubicinol en las especies de destino constituye un paso crucial para comprender la eficacia y gestionar los posibles efectos adversos en futuros tratamientos clínicos. Por lo tanto, el objetivo principal del presente estudio fue caracterizar la farmacocinética de la doxorrubicina y su metabolito, doxorrubicinol, de dos formulaciones distintas de doxorrubicina en gatos.

Materiales y métodos

Materiales

El producto estándar de clorhidrato de doxorrubicina (pureza = 98,0%), el producto estándar de doxorrubicinol (pureza = 96,4%) y el producto estándar de clorhidrato de daunorrubicina (estándar interno, pureza = 98,8%) fueron proporcionados por TLC Pharmaceutical Standers. El clorhidrato de doxorrubicina para inyección (DOX-H-Cl, 10 mg) se obtuvo de ShanXi Pude Pharmaceutical Co., Ltd., y la inyección de liposomas pegilados de clorhidrato de doxorrubicina (DOX-HCl-PLI, 20 mg:10 ml) fue suministrada por CSPC Pharmaceutical Group Ouyi. Pharmaceutical Co., Ltd. Todos los demás productos químicos y reactivos utilizados fueron de calidad cromatográfica y se obtuvieron de proveedores comerciales (Fisher Scientific).

Diseño experimental

En este estudio se utilizaron doce gatos pastorales chinos domesticados (seis hembras y seis machos; 3-3,6 kg; rango de edad de 2-3 años) obtenidos del Centro de Animales Experimentales de la Universidad Agrícola de China. Antes del estudio se verificó que los gatos estuvieran sanos basándose en el examen físico. Todos los

procedimientos fueron revisados y aprobados por Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de la Universidad Agrícola de China (NO.13303-21-E-001).

El experimento preestablecido se llevó a cabo en un diseño de dosis única y dosis paralelas. Doce gatos fueron asignados aleatoriamente a dos grupos de tratamiento del mismo tamaño. El grupo I recibió DOX-HCl a una dosis de 20 mg/m² de superficie corporal, mientras que el grupo II recibió DOX-HCl-PLI a la misma dosis. De manera similar a la práctica clínica, ambas formulaciones se administraron mediante infusión intravenosa (i.v.) lenta (administrada durante 10 minutos) después de la dilución con NaCl al 0,9 %, manteniendo una velocidad de inyección de aproximadamente 10 µL/s. Los gatos ayunaron durante 16 h antes y 8 h después de la administración del fármaco. Se pesó a cada gato inmediatamente antes de la administración del fármaco el primer día de tratamiento.

Se recogieron muestras de sangre de 0,5 ml en tubos heparinizados a través de las venas de las extremidades anteriores en 0 (pretratamiento) y 0,033, 0,083, 0,167, 0,25, 0,5, 0,75, 1, 1,5, 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 y 192 h después de iniciar la administración. Posteriormente, las muestras de sangre se centrifugaron durante 10 minutos a 4000 rpm y las muestras de plasma se almacenaron a -20 °C hasta su análisis.

Análisis de muestras

Las concentraciones plasmáticas de doxorubicina y doxorubicinol se analizaron utilizando un método validado de cromatografía líquida de ultra rendimiento-espectrometría de masas (UPLC-MS/MS), como se indicó anteriormente (7, 24). El límite inferior de cuantificación (LLOQ) de doxorubicina y doxorubicinol en plasma fue de 10 ng/ml y 2 ng/ml, respectivamente. Tanto los coeficientes de variación inter como intraensayo se mantuvieron por debajo del 15%. Las recuperaciones medias de doxorubicina oscilaron entre -14,51 y 10,00 %, mientras que las de doxorubicinol oscilaron entre -14,00 y 10,63 %. Las curvas de calibración de doxorubicina y doxorubicinol mostraron una linealidad satisfactoria dentro del rango de concentración de 10 a 2000 ng/ml ($r^2 > 0,99$) y de 2 a 400 ng/ml ($r^2 > 0,99$), respectivamente.

Análisis de los datos

Los parámetros farmacocinéticos se determinaron a partir del modelo de análisis no compartimental 200–202 (método de interpolación lineal, trapezoidal lineal, ponderación uniforme) en el software WinNonlin™ (WinNonlin 8.3, Certara Estados Unidos). Para evaluar diferencias significativas, se empleó una prueba *T* mediante SPSS Statistics 20.0 (International Business Machines, Armonk, NY, Estados Unidos) entre los grupos de estudio después de una transformación logarítmica en la vida media de eliminación ($T_{1/2\lambda_z}$), área bajo la curva de concentración/tiempo desde 0 hasta el último punto (AUC_{last}), aclaramiento corporal total (CL_{obs}), volumen de distribución aparente (Vz_{obs}) y concentración plasmática máxima (C_{max}). Se consideraron diferencias estadísticamente significativas para valores de *p* (*p*) inferiores a 0,01 y todos los datos se expresan como media ± desviación estándar (DE).





Resultados

Las curvas de concentración plasmática/tiempo de doxorubicina para los grupos DOX·HCl y DOX·HCl-PLI se muestran en la **Figura 1**.

Además, la curva de doxorubicinol se presenta para el grupo DOX·HCl-PLI, mientras que la curva para el grupo DOX·HCl-PLI no se muestra debido a los limitados puntos de tiempo medidos después de la administración. Los resultados demostraron que el perfil farmacocinético de la doxorubicina después de la administración de las dos formulaciones fue significativamente diferente.

Los parámetros farmacocinéticos para las dos formulaciones de doxorubicina se presentan en la **Tabla 1**. Los resultados mostraron diferencias significativas entre los dos grupos, DOX·HCl y DOX·HCl-PLI, en los valores $T_{1/2\lambda_z}$, AUC_{last} , CL_{obs} , Vz_{obs} y C_{max} ($p < 0,01$). Dada la baja concentración del metabolito doxorubicinol y el número limitado de puntos temporales medidos, no se pudieron obtener con precisión los parámetros farmacocinéticos del doxorubicinol basándose en la dosis actual de doxorubicina. No se observaron efectos adversos en ningún gato.

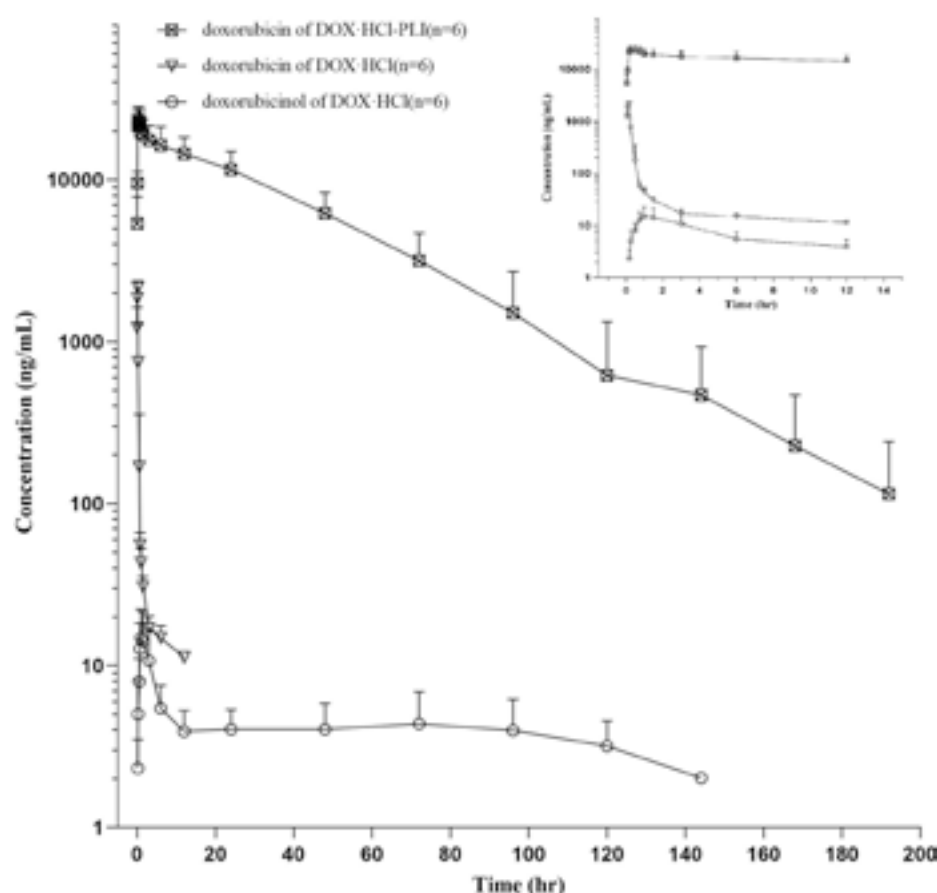


Figura 1. Curvas de concentración plasmática/tiempo de doxorubicina y doxorubicinol en gatos ($n = 6$) tras una inyección i.v. lenta de una dosis única (20 mg/m²) de DOX·HCl o DOX·HCl-PLI, respectivamente. Se muestra en primer plano las primeras 12 h tras la administración del fármaco.

Tabla 1. Parámetros farmacocinéticos plasmáticos (media aritmética±DE) tras la administración en infusión i.v. de una dosis única (20 mg/m²) de las dos formulaciones de doxorubicina a gatos (n = 6), DOX-HCl y DOX-HCl-PLI.

Parameters	DOX-HCl (n = 6)	DOX-HCl-PLI (n = 6)
λ_z (1/h)	0.17±0.07	0.05±0.03
$T_{1/2\lambda_z}$ (hr)	5.00±3.20**	17.62±8.13**
MRT_{last} (hr)	0.83±0.36	32.72±6.17
T_{max} (hr)	0.14±0.04	0.29±0.10
AUC_{INF_obs} (µg·hr./mL)	0.76±0.15	785.83±270.56
AUC_{last} (µg·hr./ mL)	0.67±0.12**	783.09±267.29**
$CL_{_obs}$ (mL/h/m ²)	27098.58±5205.19**	28.65±11.09**
$Vz_{_obs}$ (L/m ²)	178.56±71.89**	0.64±0.20**
C_{max} (µg/ mL)	2.25±0.30**	24.02±5.45**

Los parámetros farmacocinéticos se calcularon utilizando el modelo de análisis no compartimental 200-202 en el software Winnonlin TM (WinNonlin 8. 3, Certara USA); λ_z , la constante de velocidad de eliminación; $T1/2\lambda_z$, semivida de eliminación; MRT_{last} , tiempo medio de residencia; $Tmáx$, tiempo para alcanzar la concentración máxima (pico) observada en estado estacionario; AUC_{INF_obs} , área bajo la curva concentración/tiempo de 0 a infinito; AUC_{last} , área bajo la curva concentración versus tiempo de 0 al último punto; $CL_{_obs}$, aclaramiento corporal total; $Vz_{_obs}$, el volumen aparente de distribución; C_{max} , concentración plasmática máxima.
 **Diferencias significativas (p < 0,01), grupo DOX-HCl comparado con el grupo DOX-HCl-PLI.

Discusión

La doxorubicina ha demostrado una eficacia terapéutica significativa en muchos tipos de cáncer, y se considera uno de los fármacos quimioterapéuticos aprobados más potentes. Los estudios farmacocinéticos anteriores se centraron principalmente en humanos y otras especies (25); sin embargo, en los últimos años se ha observado una tendencia al alza en los casos clínicos de tumores en gatos (18, 21). Así pues, en nuestro estudio hemos investigado la farmacocinética de dos formulaciones de doxorubicina midiendo las concentraciones plasmáticas de doxorubicina y su metabolito, el doxorubicinol, en gatos.

En consonancia con otros hallazgos, nuestros resultados detectaron doxorubicina y doxorubicinol en muestras de plasma, con el fármaco principal predominantemente presente en el plasma tras la administración (26).

Nuestros resultados mostraron diferencias significativas en los perfiles farmacocinéticos de la doxorubicina y el doxorubicinol entre las formulaciones DOX-HCl y DOX-HCl-PLI. Estos resultados coinciden con los de A. Gabixon et al., en cuyo estudio de la formulación liposomal de doxorubicina se observó un mayor tiempo de circulación en plasma y un menor volumen aparente de distribución tras la administración i.v. en comparación con la doxorubicina convencional (27). Además, en nuestro estudio se vió una semivida de eliminación más larga tras la administración de DOX-HCl-PLI en comparación con el grupo DOX-





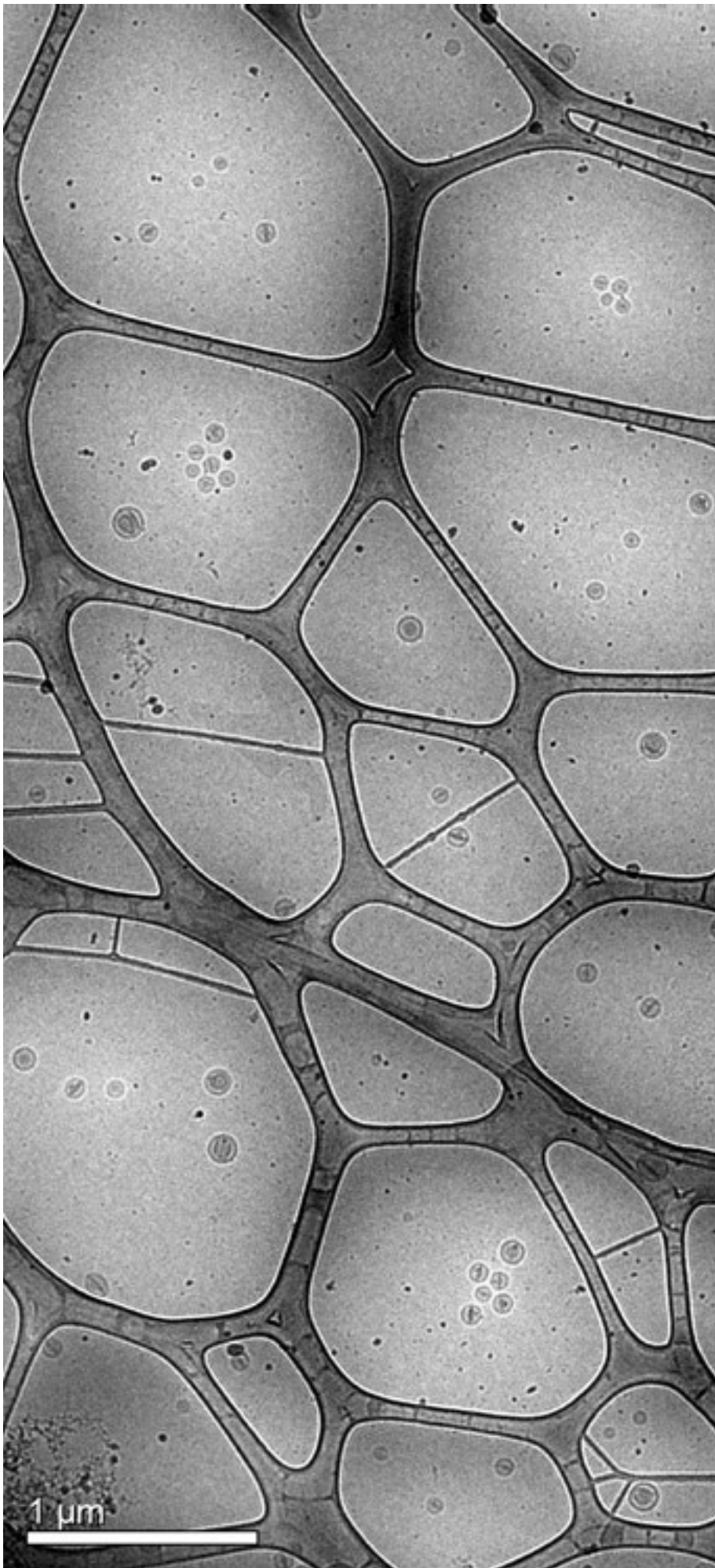
HCl. Cabe señalar que el mismo rasgo también se observó en otras especies, como lo demuestra la semivida de eliminación de 27 ± 5 h tras la administración de doxorubicina liposomal en perros (28). La presencia de moléculas de polietilenglicol (PEG) en la superficie de la doxorubicina liposomal contribuye a prolongar sus tiempos de circulación *in vivo*, que superan las 18 h en ratones y las 50 h en humanos (29). La diferencia aparente en el tiempo de circulación entre las dos formulaciones se atribuye probablemente a la capa de PEG que reduce su interacción con el sistema fagocítico mononuclear (MPS), ayudando así a evitar la eliminación en el hígado (30). Además, el volumen de distribución del grupo DOX-HCl-PLI fue significativamente menor en comparación con el grupo DOX-HCl, lo que indica que la formulación liposomal está confinada principalmente dentro del compartimento intravascular (2). Además, el AUC_{last} ($0,67 \pm 0,12$ $\mu\text{g}\cdot\text{hr.}/\text{mL}$) del DOX-HCl fue inferior al del DOX-HCl-PLI ($783,09 \pm 267,29$ $\mu\text{g}\cdot\text{hr.}/\text{mL}$) en gatos.

Estos resultados sugieren que el DOX-HCl-PLI aumenta potencialmente la biodisponibilidad y mejora su potencial de efecto antitumoral. En un estudio de A. Rahmab y otros, se exploró la farmacocinética comparativa de la doxorubicina libre y la doxorubicina atrapada en liposomas de cardiolipina en ratas administradas a una dosis i.v. de 6 mg/kg. La concentración plasmática máxima de doxorubicina libre a los 5 min fue de 1,7 $\mu\text{g}/\text{mL}$, mientras que la formulación de liposomas de cardiolipina produjo una concentración plasmática máxima de doxorubicina a los 5 min de 20,9 $\mu\text{g}/\text{mL}$. El AUC para la doxorubicina libre y la doxorubicina liposomal fue de 1,95 $\mu\text{g}\cdot\text{hora}/\text{mL}$ y 81,4 $\mu\text{g}\cdot\text{hora}/\text{mL}$, respectivamente (31). Del mismo modo, en ratones, el AUC_{last} ($72,98 \pm 15,79$ $\mu\text{g}\cdot\text{hora}/\text{mL}$) del DOX-HCl fue inferior al del DOX-HCl-PLI ($499,61 \pm 72,35$ $\mu\text{g}\cdot\text{hora}/\text{mL}$) (32).

Estos hallazgos sugieren que el DOX-HCl presenta un mayor volumen de distribución, un aclaramiento más rápido y una semivida más corta en comparación con el DOX-HCl-PLI.

No obstante, nuestro estudio pudo detectar que la concentración de doxorubicinol era baja inmediatamente después de la administración de DOX-HCl, y que era aún menor cuando se administraba DOX-HCl-PLI. Estas observaciones concuerdan con hallazgos anteriores (29, 33) e indican una conversión notablemente reducida de doxorubicina a doxorubicinol cuando la doxorubicina se administra en su forma liposomal. Los datos del presente estudio podrían servir como prueba científica que contribuya a explicar la sustancial reducción de la cardiotoxicidad asociada a la doxorubicina liposomal.

En conclusión, este estudio representa una investigación inicial para comprender la farmacocinética de dos formulaciones distintas de doxorubicina en gatos. Aunque preliminares, los hallazgos ofrecen conocimientos fundamentales que podrían resultar cruciales para la administración práctica y clínica de la doxorubicina, en particular en el tratamiento del cáncer en sujetos felinos.



Fotografía 1. Disparo con un microscopio electrónico criogénico, un fármaco contra el cáncer (doxorrubicina).



Otra información

Declaración de disponibilidad de datos

Las contribuciones originales presentadas en el estudio se incluyen en el artículo/material suplementario, las consultas adicionales pueden dirigirse a los autores correspondientes.

Declaración ética

El estudio con animales fue aprobado por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de la Universidad Agrícola de China (Nº 13303-21-E-001). El estudio se realizó de acuerdo con la legislación local y los requisitos institucionales.

Contribución de los autores

YL: Redacción - borrador original, Análisis formal, Validación, Redacción - revisión y edición. SC: Redacción - revisión y edición, Análisis formal, Validación. ZW: Redacción - revisión y edición, Validación. JM: Redacción - revisión y edición, Recopilación de datos, Validación. YY: Redacción - revisión y edición, Validación. YZ: Redacción: revisión y edición, validación. JW: Redacción - revisión y edición. XC: Redacción - revisión y edición.

Financiación

Los autores declaran que no han recibido apoyo financiero para la investigación, autoría y/o publicación de este artículo.

Agradecimientos

Queremos agradecer a Xiaohui Gong, Pan Sun y Jing Li su ayuda en la determinación analítica del fármaco y en el pedido de consumibles experimentales.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que la investigación se llevó a cabo en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que podría interpretarse como un posible conflicto de intereses.

Nota del editor

Todas las afirmaciones expresadas en este artículo son exclusivamente las de los autores y no representan necesariamente las de sus organizaciones afiliadas, o las del editor, los editores y los revisores. El editor no garantiza ni respalda ningún producto que pueda evaluarse en este artículo, ni ninguna afirmación que pueda hacer su fabricante.

Referencias

1. Rivankar, S. An overview of doxorubicin formulations in cancer therapy. *J Cancer Res Ther.* (2014) 10:853–8. doi: 10.4103/0973-1482.139267
2. Tahover, E, Patil, YP, and Gabizon, AA. Emerging delivery systems to reduce doxorubicin cardiotoxicity and improve therapeutic index: focus on liposomes. *Anti-Cancer Drugs.* (2015) 26:241–58. doi: 10.1097/CAD.0000000000000182
3. Li, XR, Cheng, XH, Zhang, GN, Wang, XX, and Huang, JM. Cardiac safety analysis of first-line chemotherapy drug pegylated liposomal doxorubicin in ovarian cancer. *J Ovarian Res.* (2022) 15:96. doi: 10.1186/s13048-022-01029-6
4. Wu, BB, Leung, KT, and Poon, EN. Mitochondrial-targeted therapy for doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Int J Mol Sci.* (2022) 23:1912. doi: 10.3390/ijms23031912
5. Kong, CY, Guo, Z, Song, P, Zhang, X, Yuan, YP, Teng, T, et al. Underlying the mechanisms of doxorubicin-induced acute cardiotoxicity: oxidative stress and cell death. *Int J Biol Sci.* (2022) 18:760–70. doi: 10.7150/ijbs.65258
6. Sheibani, M, Azizi, Y, Shayan, M, Nezamoleslami, S, Eslami, F, Farjoo, MH, et al. Doxorubicin-induced cardiotoxicity: an overview on pre-clinical therapeutic approaches. *Cardiovasc Toxicol.* (2022) 22:292–310. doi: 10.1007/s12012-022-09721-1
7. Harahap, Y, Ardinarsih, P, Corintias Winarti, A, and Purwanto, DJ. Analysis of the doxorubicin and Doxorubicinol in the plasma of breast Cancer patients for monitoring the toxicity of doxorubicin. *Drug Des Devel Ther.* (2020) 14:3469–75. doi: 10.2147/DDDT.S251144
8. Zeng, X, Cai, H, Yang, J, Qiu, H, Cheng, Y, and Liu, M. Pharmacokinetics and cardiotoxicity of doxorubicin and its secondary alcohol metabolite in rats. *Biomed Pharmacother.* (2019) 116:108964. doi: 10.1016/j.biopha.2019.108964
9. Gabizon, AA. Pegylated liposomal doxorubicin: metamorphosis of an old drug into a new form of chemotherapy. *Cancer Investig.* (2001) 19:424–36. doi: 10.1081/CNV-100103136
10. Laginha, KM, Verwoert, S, Charrois, GJ, and Allen, TM. Determination of doxorubicin levels in whole tumor and tumor nuclei in murine breast cancer tumors. *Clin Cancer Res.* (2005) 11:6944–9. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-05-0343
11. Goebel, FD, Goldstein, D, Goos, M, Jablonowski, H, and Stewart, JS. Efficacy and safety of stealth liposomal doxorubicin in aids-related Kaposi's sarcoma. The international SI-dox study group. *Br J Cancer.* (1996) 73:989–94. doi: 10.1038/bjc.1996.193
12. Gabizon, AA. Liposomal anthracyclines. *Hematol Oncol Clin North Am.* (1994) 8:431–50.
13. Taléns-Visconti, R, Díez-Sales, O, de Julián-Ortiz, JV, and Nácher, A. Nanoliposomes in Cancer therapy: marketed products and current clinical trials. *Int J Mol Sci.* (2022) 23:4249. doi: 10.3390/ijms23084249
14. Nascimento, C, Gameiro, A, Correia, J, Ferreira, J, and Ferreira, F. The landscape of tumor-infiltrating immune cells in feline mammary carcinoma: pathological and clinical implications. *Cell.* (2022) 11:2578. doi: 10.3390/cells11162578
15. Nascimento, C, and Ferreira, F. Tumor microenvironment of human breast cancer, and feline mammary carcinoma as a potential study model. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* (2021) 1876:188587. doi: 10.1016/j.bbcan.2021.188587
16. Granados-Soler, JL, Taher, L, Beck, J, Bornemann-Kolatzki, K, Brenig, B, Nerschbach, V, et al. Transcription profiling of feline mammary carcinomas and derived cell lines reveals biomarkers and drug targets associated with metabolic and cell cycle pathways. *Sci Rep.* (2022) 12:17025. doi: 10.1038/s41598-022-20874-5
17. Williams, AG, Hohenhaus, AE, and Lamb, KE. Incidence and treatment of feline renal lymphoma: 27 cases. *J Feline Med Surg.* (2021) 23:936–44. doi: 10.1177/1098612X20984363





18. Simon, KL, Cook, MR, Husbands, BD, Long, ME, Hokamp, JA, Helms, TH, et al. Use of doxorubicin chemotherapy following debulking surgery in the treatment of a cat with mesenteric hemangiosarcoma. *JFMS Open Rep.* (2022) 8:20551169221121900. doi: 10.1177/20551169221121900
19. Zabielska-Koczywās, K, and Lechowski, R. The use of liposomes and nanoparticles as drug delivery systems to improve Cancer treatment in dogs and cats. *Molecules.* (2017) 22:2167. doi: 10.3390/molecules22122167
20. Barber, LG, Sorenmo, KU, Cronin, KL, and Shofer, FS. Combined doxorubicin and cyclophosphamide chemotherapy for nonresectable feline fibrosarcoma. *J Am Anim Hosp Assoc.* (2000) 36:416–21. doi: 10.5326/15473317-36-5-416
21. Reiman, RA, Mauldin, GE, and Neal, MG. A comparison of toxicity of two dosing schemes for doxorubicin in the cat. *J Feline Med Surg.* (2008) 10:324–31. doi: 10.1016/j.jfms.2007.12.009
22. Gameiro, A, Urbano, AC, and Ferreira, F. Emerging biomarkers and targeted therapies in feline mammary carcinoma. *Vet Sci.* (2021) 8:164. doi: 10.3390/vetsci8080164
23. Tardi, PG, Boman, NL, and Cullis, PR. Liposomal doxorubicin. *J Drug Target.* (1996) 4:129–40. doi: 10.3109/10611869609015970
24. Anders, CK, Adamo, B, Karginova, O, Deal, AM, Rawal, S, Darr, D, et al. Pharmacokinetics and efficacy of Pegylated liposomal doxorubicin in an intracranial model of breast cancer. *PLoS One.* (2013) 8:e61359. doi: 10.1371/journal.pone.0061359
25. Gabizon, A, Shmeeda, H, and Barenholz, Y. Pharmacokinetics of pegylated liposomal doxorubicin: review of animal and human studies. *Clin Pharmacokinet.* (2003) 42:419–36. doi: 10.2165/00003088-200342050-00002
26. Maniez-Devos, DM, Baurain, R, Trouet, A, and Lesne, M. Doxorubicin pharmacokinetics in the rabbit. *J Pharmacol.* (1985) 16:159–69.
27. Gabizon, A, Catane, R, Uziely, B, Kaufman, B, Safra, T, Cohen, R, et al. Prolonged circulation time and enhanced accumulation in malignant exudates of doxorubicin encapsulated in polyethylene-glycol coated liposomes. *Cancer Res.* (1994) 54:987–92.
28. Gabizon, AA, Barenholz, Y, and Bialer, M. Prolongation of the circulation time of doxorubicin encapsulated in liposomes containing a polyethylene glycol-derivatized phospholipid: pharmacokinetic studies in rodents and dogs. *Pharm Res.* (1993) 10:703–8. doi: 10.1023/A:1018907715905
29. Allen, TM, K Cheng, WW, Hare, JI, and Laginha, KM. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of lipidic nano-particles in cancer. *Anti Cancer Agents Med Chem.* (2006) 6:513–23. doi: 10.2174/187152006778699121
30. Makwana, V, Karanjia, J, Haselhorst, T, Anoopkumar-Dukie, S, and Rudrawar, S. Liposomal doxorubicin as targeted delivery platform: current trends in surface functionalization. *Int J Pharm.* (2021) 593:120117. doi: 10.1016/j.ijpharm.2020.120117
31. Rahman, A, Carmichael, D, Harris, M, and Roh, JK. Comparative pharmacokinetics of free doxorubicin and doxorubicin entrapped in cardiolipin liposomes. *Cancer Res.* (1986) 46:2295–9.
32. Lu, WL, Qi, XR, Zhang, Q, Li, RY, Wang, GL, Zhang, RJ, et al. A pegylated liposomal platform: pharmacokinetics, pharmacodynamics, and toxicity in mice using doxorubicin as a model drug. *J Pharmacol Sci.* (2004) 95:381–9. doi: 10.1254/jphs.FPJ04001X
33. Liu, Y, Yang, Y, Liu, X, and Jiang, T. Quantification of pegylated liposomal doxorubicin and doxorubicinol in rat plasma by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectroscopy: application to preclinical pharmacokinetic studies. *Talanta.* (2008) 74:887–95. doi: 10.1016/j.talanta.2007.07.022